

Efek Senyawa Saponin pada *Sapindus rarak* dengan Pakan Berbasis Jerami Padi dalam Mitigasi Gas Metana

(Effects of Saponin from *Sapindus rarak* in the Ammoniated Rice Straw Based Feed on Methane Emission)

Nanang Krisnawan^{1*}, Asep Sudarman¹, Anuraga Jayanegara¹, Yeni Widyawati²

(Diterima Mei 2015/Disetujui November 2015)

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji senyawa saponin dari buah rerak (*Sapindus rarak*) yang ditambahkan pada pakan jerami padi amoniasi dengan level (20 & 40%) terkait efeknya dalam menurunkan emisi gas metana ternak ruminansia dan pola fermentasi yang diuji secara *In Vitro*. Penelitian ini menggunakan rancangan acak kelompok dengan empat perlakuan dan empat ulangan. Peubah yang diamati adalah produksi gas total, produksi gas metan, pencernaan bahan kering (KBK), N-ammonia, VFA total, VFA parsial, dan protozoa rumen. Data yang diperoleh dianalisis dengan ANOVA, jika terdapat perbedaan yang nyata akan dilakukan uji DMRT. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan *S. rarak* sebagai sumber saponin pada pakan jerami padi amoniasi memberikan pengaruh nyata ($P<0,05$) terhadap produksi gas total, produksi gas metan, pencernaan bahan kering (KBK), konsentrasi N-ammonia, VFA parsial, dan populasi protozoa. Penambahan *S. rarak* sebagai sumber saponin dengan dosis 20% pada pakan jerami padi ternyata mampu menurunkan emisi gas metana serta mampu menurunkan produksi gas total, konsentrasi N-ammonia, serta populasi protozoa pada proses fermentasi rumen.

Kata kunci: mitigasi metana, *sapindus rarak*, saponin

ABSTRACT

The objective of the research was to study saponin in *Sapindus rarak* were added to the diet of rice straw ammoniation (20 & 40%), related to the effect in reducing methane emissions of ruminants and pattern of rumen fermentation were tested by *in vitro*. Completely randomized block design with four treatments and four replications was used. Variables measured were gas production total, methane production, dry matter digestibility (DMD), N-ammonia, VFA total, VFA partial, and population of protozoa. The results showed that the addition saponins in *S. rarak* as a source of rice straw ammoniation significant effect ($P<0.05$) of the total gas production, methane production, dry matter digestibility (DMD), N-ammonia, VFA partial, and population of protozoa. *S. rarak* use as a source of saponins with a dose of 20% on rice straw ammoniation was able to reduce methane gas production drop in gas production total, concentration of N-ammonia, and protozoa population.

Keywords: methane mitigation, *sapindus rarak*, saponin

PENDAHULUAN

Pemanasan global menjadi masalah lingkungan yang menyita banyak perhatian, *Intergovernmental Panel on Climate Change* (IPCC) melaporkan bahwa peningkatan suhu permukaan bumi meningkat mencapai $0,74 \pm 0,18$ °C pada abad ke 20 ini di mana peningkatan suhu tersebut merupakan peningkatan suhu terbesar dalam kurun waktu beberapa ribu tahun terakhir. Pemanasan global diklaim terkait dengan tingginya laju akumulasi gas rumah kaca pada lapisan atmosfer. Peningkatan gas rumah kaca seperti karbon dioksida (CO₂), metana (CH₄), nitrogen oksida (N₂O),

dan kloro fluoro karbon (CFC) merupakan akibat tingginya berbagai aktivitas manusia (Thorpe 2009). Metana (CH₄) merupakan penyumbang terbesar kedua gas rumah kaca (sebesar 16% dari total) keseluruhan gas rumah kaca. Gas metana memiliki kemampuan untuk meningkatkan potensi panas (*global warming potential*) mencapai 21 kali lipat lebih besar dibandingkan dengan CO₂ (Iqbal *et al.* 2008).

Sekitar 28% emisi gas metana antropogenik berasal dari ternak ruminansia (Beauchemin *et al.* 2008). Hal ini dikarenakan terjadinya proses pembentukan gas metana atau metanogenesis oleh archaea metanogen yang berada di saluran pencernaan ternak ruminansia, khususnya di rumen. Cottle *et al.* (2011) menyebutkan bahwa energi yang hilang sebagai metana dari ternak ruminansia cukup signifikan, yakni berkisar antara 8–14% dari total energi tercerna. Tanaman asal tropis merupakan tanaman yang tinggi akan kandungan senyawa metabolit sekunder seperti polifenol tanin dan

¹ Departemen Ilmu Nutrisi dan Pakan Ternak, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680.

² Balai Penelitian Ternak Ciawi, Jl. Veteran III, Ciawi, Bogor 16002.

* Penulis Korespondensi:

E-mail: Nanang_krisnawan11@yahoo.com

saponin. Terkait dengan emisi gas metana dari ternak ruminansia. Rendahnya kualitas pakan ternak ruminansia memicu meningkatnya produksi gas metana asal ternak ruminansia.

Jerami padi merupakan salah satu pakan yang biasa digunakan oleh peternak sebagai pakan ternak. Jerami padi merupakan bahan pakan yang mutunya rendah karena mengandung silika dan lignin sehingga sulit dipecah oleh enzim pencernaan yang menyebabkan nilai pencernaan rendah (Yunilas 2009). Perlakuan amoniasi jerami dengan menggunakan urea selain mampu melonggarkan ikatan lignoselulosa sehingga lebih mudah dicerna oleh bakteri rumen juga mampu meningkatkan nitrogen untuk pertumbuhan bakteri rumen (Leng 1991).

Tanaman asal tropis merupakan tanaman yang tinggi akan kandungan senyawa metabolit sekunder seperti saponin. Terkait dengan emisi gas metana dari ternak ruminansia reduksi, saponin bekerja melalui reduksi populasi protozoa rumen (Hess *et al.* 2003). Finlay *et al.* (1994) melaporkan bahwa sebagian archaea metanogen bersimbiosis dengan protozoa dan berkontribusi sebesar 37% dari total gas metana dalam rumen. Dengan demikian, penekanan populasi protozoa juga dapat berakibat pada menurunnya emisi metana. Jika target menurunkan populasi protozoa (melalui senyawa saponin) dilakukan secara simultan, maka diharapkan terjadi mitigasi emisi gas metana yang signifikan dan diharapkan efeknya tidak sekedar efek aditif.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengkaji senyawa saponin dari buah rerak (*S. rarak*) yang ditambahkan pada pakan jerami padi amoniasi terkait efeknya dalam menurunkan emisi gas metana ternak ruminansia dan pola fermentasi yang diuji secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juli–Oktober 2013, yaitu uji *In Vitro* yang meliputi pengujian produksi gas, produksi gas metana, pencernaan, populasi protozoa, dan konsentrasi N-amoniak dilakukan di Laboratorium Pakan Balai Penelitian Ternak (BALITNAK) Ciawi, Bogor. Pengujian VFA parsial dilakukan di Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi, Universitas Gajah Mada (UGM) Yogyakarta.

Materi yang digunakan pada penelitian ini adalah jerami padi amoniasi, hijauan tinggi saponin, yaitu buah rerak (*S. rarak*) dan cairan rumen sapi peranakan *Frisian holstein* milik Balai Penelitian Ternak Ciawi Bogor yang diberi pakan berupa rumput gajah dan konsentrat.

Pelaksanaan Inkubasi *In Vitro*

Teknik inkubasi *In Vitro* berdasarkan metode Theodorou dan Brook (1990). Sebanyak 1 g sampel dimasukkan ke dalam botol yang kemudian ditambahkan 100 ml larutan buffer rumen yang dijenuhkan

dengan menambahkan gas CO₂ kemudian diinkubasi dalam *water bath* pada suhu 42 °C selama 48 jam.

Pengukuran Akumulasi Produksi Gas

Produksi gas diamati pada jam ke 3, 6, 9, 12, 24, dan 48, setelah diinkubasi. Produksi gas diukur menggunakan *syringe* yang menyerupai *sprit* yang dilengkapi keran penutup dengan volume 50 ml kemudian produksi gas dapat dibaca dari skala pada *syringe*.

Pengukuran Persen Gas Metana

Pengukuran persen gas metana bersamaan dengan pengukuran gas total di mana setelah dilakukan pembacaan gas total jarum pada *syringe* dilepaskan untuk kemudian ujung dari *syringe* dimasukkan pada selang yang terhubung pada saluran masuk *erlenmeyer* yang berisi larutan NaOH 5N dan pada saluran keluar dari *erlenmeyer* dipasang *syringe* dengan kapasitas 10 ml, di mana pembacaan produksi gas metana dilakukan secara manual dengan melihat skala pada *syringe*.

Perhitungan Volatile Fatty acid (VFA parsial dan total)

VFA (*Volatile Fatty Acid*) merupakan produk akhir fermentasi utama yang berfungsi sebagai sumber energi bagi ternak ruminansia. Pengukuran VFA menggunakan alat *gas chromatography* (GC 8A, Shimadzu Crop. Kyoto. Japan). Kolom dalam GC berisi 10% SP-1200, 1% H₃PO₄ on 80/100 Chromosorb WAW. 1,5 ml sampel diinjeksikan ke dalam *microtube* kemudian tingkat keasaman diturunkan mencapai tingkat keasaman 3 dengan tujuan menstabilkan sampel. 1 µl sampel diinjeksikan ke dalam GC dengan penghitungan jumlah VFA, yaitu dengan membandingkan kurva yang dihasilkan dengan kurva standar eksternal yang terdiri dari VFA parsial. VFA total dihitung dari penjumlahan VFA parsial penyusunnya.

Penghitungan N-Amonia (NH₃)

Konsentrasi N-amonia dalam cairan rumen diukur dengan metode mikrodifusi Conway (General Laboratory Prosedurs 1966). Supernatan sampel sebanyak 1 ml diletakkan dalam satu sisi sekat *conway* dan pada posisi sekat lainnya diletakkan 1 ml larutan NaOH 20%. Posisi cawan *conway* dimiringkan agar kedua larutan tersebut tidak bercampur sebelum cawan ditutup rapat. Pada bagian tengah diletakkan 1 ml asam borat 3% berindikator BCG:MR. Pada tepi cawan dan penutupnya diolesi vaselin agar tertutup rapat. Kemudian cawan diletakkan mendatar sehingga larutan NaOH 20% bercampur dengan supernatan dan dalam reaksi tersebut dilepaskan gas amonia. Amonia yang dibebaskan akan segera ditangkap oleh asam borat. Proses ini akan berlangsung sempurna setelah 24 jam, kemudian asam borat dititrasi dengan HCl 0,01 N sampai terjadi perubahan warna dari biru ke merah (warna awal asam borat). Kadar amonia dapat dihitung dengan rumus: (m.M)= ml titrasi x normalitas HCl X 100.

Kecernaan Bahan Kering (KBK)

Hasil fermentasi selama 48 jam dipisahkan antara supernatan dan residu, dengan cara menyaring dengan menggunakan *sinter glass* yang dihubungkan dengan *fakum pump*. Hasil saringan yang tertampung pada *sinter glass* di oven pada suhu 105 °C selama 24 jam, kemudian ditimbang. Penetapan KBK diperoleh dari selisih antara BK sampel awal dan BK residu.

Prosedur Penghitungan Populasi Protozoa

Prosedur penghitungan protozoa berdasarkan Ogimoto dan Imai (1987). Sampel cairan rumen ditambahkan sebanyak 0,5 ml ke dalam larutan MFS (*Methylgreen Formal-Salin*) sebanyak 4,5 ml. Penghitungan populasi protozoa menggunakan mikroskop pada pembesaran 10 kali menggunakan alat homosito meter. Penghitungan populasi protozoa dihitung dengan cara mengalikan jumlah populasi protozoa terhitung dengan faktor pengenceran.

Rancangan Penelitian dan Analisis Statistik

Penelitian ini menggunakan rancangan acak kelompok terdiri dari empat perlakuan dan empat ulangan, dengan perbedaan antar inkubasi (cairan rumen) sebagai faktor kelompoknya. Data yang diperoleh dianalisis dengan ANOVA, jika terdapat perbedaan yang nyata dilakukan uji DMRT. Adapun perlakuannya sebagai berikut: R0: jerami padi; R1: jerami padi amoniasi; R2: jerami padi amoniasi 80% + *S. rarak* 20%; dan R3: jerami padi amoniasi 60% + *S. rarak* 40%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Produksi Gas Total

Data hasil pengamatan akumulasi produksi gas disajikan pada Tabel 1. Akumulasi produksi gas semakin meningkat seiring lamanya masa inkubasi cairan rumen. Penambahan *S. rarak* sebagai sumber saponin pada pakan jerami padi amoniasi memberikan pengaruh nyata ($P<0,05$) terhadap akumulasi produksi gas total pada masa inkubasi jam ke 9–48.

Akumulasi gas yang dihasilkan mengalami penurunan yang signifikan dibandingkan kontrol positif (R1). Beberapa penelitian melaporkan bahwa penggunaan saponin memberikan efek yang negatif terhadap

produksi gas yang dihasilkan dari proses fermentasi di dalam rumen. Seperti yang dilaporkan oleh Jayanegara *et al.* (2009b) bahwa penambahan saponin yang berasal dari beberapa tanaman mampu menurunkan produksi gas.

Produksi Gas Metana

Produksi gas metana dalam penelitian ini disajikan dalam satuan (% dari gas total). Data hasil pengamatan akumulasi produksi gas metana disajikan pada Tabel 2. Akumulasi produksi gas metana semakin meningkat seiring lamanya masa inkubasi cairan rumen. Penambahan *S. rarak* pada pakan jerami padi amoniasi memberikan pengaruh nyata ($P<0,05$) terhadap produksi metana.

Akumulasi produksi gas metana (kontrol positif) pada inkubasi jam ke 24 dan 48 secara statistik lebih rendah dibandingkan jerami padi yang tidak diamoniasi (kontrol negatif). Penurunan akumulasi produksi gas metana yang dihasilkan hanya terjadi pada jerami padi amoniasi yang diberi penambahan *S. rarak* dengan dosis 20% (R2) pada inkubasi jam ke 48.

Senyawa saponin mereduksi populasi protozoa dalam rumen (Hess *et al.* 2003). Sebagian populasi metanogen hidup bersimbiosis dengan protozoa (Finlay *et al.* 1994). Metanogen merupakan mikroorganisme pembentuk gas metan (CH_4), dengan berkurangnya populasi metanogen maka diharapkan produksi gas metan dapat berkurang. Perlakuan yang diberi penambahan sumber saponin dengan dosis 20% terjadi penurunan yang signifikan pada jam-jam inkubasi terakhir.

Kecernaan Bahan Kering (KBK)

Terdapat pengaruh nyata ($P<0,05$) antara penambahan *S. rarak* pada jerami amoniasi terhadap kecernaan bahan kering (KBK). Data kecernaan bahan kering (KBK) pakan jerami padi yang diberi penambahan *S. rarak* disajikan pada Gambar 1.

Secara statistik penggunaan *S. rarak* sampai taraf 40% belum memberikan efek negatif terhadap nilai kecernaan, ini dapat dilihat dari tidak ada perbedaan yang nyata ($P<0,05$) antara, R2, R3 dibandingkan kontrol positif (R1). Beberapa penelitian banyak yang menyebutkan bahwa penggunaan senyawa saponin ternyata mampu menurunkan nilai kecernaan. Efek negatif yang diakibatkan oleh penambahan *S. rarak*

Tabel 1 Akumulasi produksi gas pada jerami padi amoniasi dengan persentase penambahan *S. rarak* yang berbeda

	R0	R1	R2	R3
Jam ke 3	6,94	7,44	6,19	7,44
Jam ke 6	13,3	12,4	11,6	11,8
Jam ke 9	20,0b	18,8ab	16,9a	18,1ab
Jam ke 12	25,5ab	27,3b	22,9a	23,9ab
Jam ke 24	53,3ab	59,0b	52,3a	50,8a
Jam ke 48	88,5a	101,0b	88,3a	89,4a

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perlakuan berbeda nyata ($P<0,05$).

Tabel 2 Akumulasi produksi gas metana (dalam satuan % gas total) jerami padi amoniasi dengan persentase penambahan dan *S. rarak* yang berbeda

	R0	R1	R2	R3
Jam ke 3	17,3	15,6	16,6	16,6
Jam ke 6	20,5	18,5	18,8	18,6
Jam ke 9	24,1	21,4	21,1	22,0
Jam ke 12	25,8b	20,8a	22,7ab	22,5ab
Jam ke 24	25,7b	21,3a	18,6a	20,1a
Jam ke 48	24,0c	19,9b	18,1a	19,5ab

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perlakuan berbeda nyata ($P<0,05$).

sebagai sumber saponin dilaporkan oleh Wina *et al.* (2005).

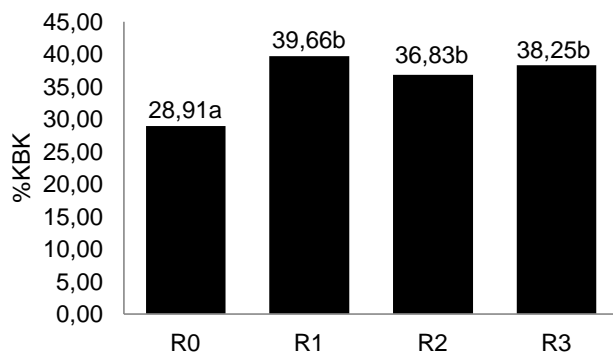
Konsentrasi N-Ammonia

Hasil penelitian menunjukkan pengaruh nyata ($P<0,05$) antara penambahan, *S. rarak* pada jerami amoniasi terhadap konsentrasi N-ammonia. Data konsentrasi N-ammonia pakan jerami padi yang diberi penambahan, *S. rarak* disajikan pada Gambar 2. Terjadi penurunan konsentrasi N-ammonia pada pakan jerami padi amoniasi yang diberi tambahan *S. rarak* dengan dosis 20 dan 40% dibandingkan kontrol positif (R1).

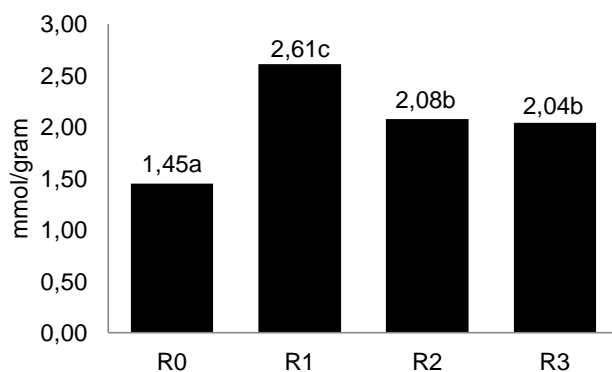
Menurut Wina *et al.* (2005) penggunaan saponin pada pakan dapat memberikan efek negatif terhadap konsentrasi N-ammonia karena populasi protozoa yang berkurang akibat penggunaan saponin sehingga secara tidak langsung mampu menurunkan konsentrasi N-ammonia.

Produksi VFA Total dan Parsial

Produksi VFA disajikan pada Tabel 3. Penambahan, *S. rarak* pada jerami padi amoniasi berpengaruh nyata ($P<0,05$) terhadap produksi asetat, propionate, dan butirrat. Tetapi tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap produksi VFA total. Terjadi peningkatan butirrat yang nyata ($P<0,05$) dibandingkan kontrol positif ketika *S. rarak* ditambahkan sebanyak 20% ke dalam jerami padi amoniasi (R4).



Gambar 1 Kecernaan bahan kering (KBK) pada jerami padi amoniasi dengan persentase penambahan *S. rarak* yang berbeda.



Gambar 2 Konsentrasi ammonia pada jerami padi amoniasi dengan persentase penambahan *S. rarak* yang berbeda.

Menurut Jayanegara *et al.* (2009a) produksi VFA total di dalam cairan rumen yang dihasilkan selama proses fermentasi merupakan salah satu indikator ketersediaan energi untuk ternak. VFA dibentuk dari proses perombakan serat kasar oleh mikroorganisme di dalam rumen. Tidak terdapat pengaruh yang nyata ($P<0,05$) pada penambahan *S. rarak* pada jerami padi amoniasi sebagai sumber saponin, artinya penambahan sampai taraf 40% belum mengganggu aktivitas fermentasi oleh mikroorganisme di dalam rumen.

Populasi Protozoa

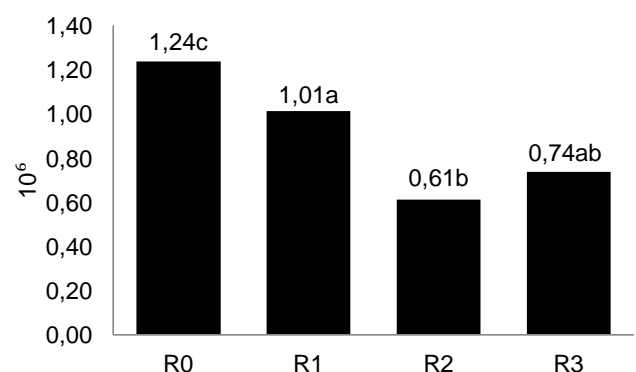
Populasi protozoa dari hasil penelitian menunjukkan hasil yang bervariasi. Tidak ada perbedaan yang nyata ($P>0,05$) antara kontrol positif (R1) dan kontrol negatif (R0), artinya tidak ada pengaruh proses amoniasi terhadap populasi protozoa (Gambar 3). Populasi protozoa mengalami penurunan yang nyata ($P<0,05$) ketika jerami padi amoniasi diberi tambahan *S. rarak* sebanyak 20% (R2).

Fakta bahwa penambahan senyawa saponin memengaruhi populasi protozoa telah lama diketahui, seperti yang telah dilaporkan oleh Goel *et al.* (2008a; 2008b) bahwa senyawa saponin mampu menghambat populasi dari protozoa, di dalam rumen protozoa juga berperan sebagai inang metanogen. Dengan berkurangnya populasi protozoa di dalam rumen maka secara tidak langsung populasi metanogen akan berkurang, yang akhirnya akan mengakibatkan berkurangnya pembentukan gas metan.

Tabel 3 Produksi VFA jerami padi amoniasi dengan persentase penambahan *S. rarak* yang berbeda

Perlakuan	R0	R1	R2	R3
VFA Total (mmol/g)	2,0	2,0	2,5	2,0
VFA Parsial :				
- Asetat (%)	65,7b	62,1ab	54,8a	57,8ab
- Propionat (%)	23,0a	25,6ab	26,3ab	30,9b
- Butirat (%)	11,3a	12,3a	18,9b	11,3a

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perlakuan berbeda nyata ($P<0,05$).



Gambar 3 Populasi protozoa pada jerami padi amoniasi dengan persentase penambahan *S. rarak* yang berbeda.

KESIMPULAN

Penambahan *S. rarak* sebagai sumber saponin dengan dosis 20% pada pakan jerami padi ternyata mampu menurunkan emisi gas metana. Namun penambahan *S. rarak* dengan dosis 20% ternyata juga mampu menurunkan produksi gas total, konsentrasi N-ammonia serta populasi protozoa pada proses fermentasi dalam cairan rumen. Kurang terlihatnya pengaruh penambahan *S. rarak* karena tertutupi oleh pengaruh amoniasi. Proses amoniasi pada jerami padi terbukti mampu menurunkan produksi gas metana.

DAFTAR PUSTAKA

- Beauchemin KA, Kreuzer M, O'Mara F, McAllister TA. 2008. Nutritional management for enteric methane abatement: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 48(2): 21–27. <http://doi.org/c6gtk9>
- Conway EJ. 1962. Microdiffusion analysis and volumetric error. 5th edition. London (GB): Crosby Lookwood.
- Cottle DJ, Nolan JV, Wiedemann SG. 2011. Ruminant enteric methane mitigation: a review. *Animal Production Science*. 51(6): 491–514. <http://doi.org/fqjt9p>
- Finlay BJ, Esteban G, Clarke KJ, Williams AG, Embley TM, Hirt RP. 1994. Some rumen ciliates have endosymbiotic methanogens. *FEMS Microbiology Letters*. 117(2): 157–162. <http://doi.org/cngcgb>
- Goel G, Makkar HPS, Becker K. 2008a. Changes in microbial community structure, methanogenesis and rumen fermentation in response to saponin-rich fractions from different plant materials. *Journal of Applied Microbiology*. 105(3): 770–777. <http://doi.org/dj2pnb>
- Goel G, Makkar HPS, Becker K. 2008b. Effects of *Sesbania sesban* and *Carduus pycnocephalus* leaves and Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) seeds and their extracts on partitioning of nutrients from roughage- and concentrate-based feeds to methane. *Animal Feed Science and Technology*. 147(1–3): 72–89. <http://doi.org/dnsvnt>
- Hess HD, Kreuzer M, Diaz TE, Lascano CE, Carulla JE, Soliva CR, Machmüller A. 2003. Saponin rich tropical fruits affect fermentation and methanogenesis in faunated and defaunated rumen fluid. *Animal Feed Science and Technology*. 109(1–4): 79–94. <http://doi.org/cwkrfj>
- IPCC. 2007. Climate change 2007: synthesis report. http://www.ipcc.ch/pdf/assessment-report/ayr4/syr/ar4_syr_sym.pdf.
- Iqbal MF, Cheng YF, Zhu WY, Zeshan B. 2008. Mitigation of ruminant methane production: current strategies, constraints and future options. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 24(12): 2747–2755. <http://doi.org/dgfsxd>
- Jayanegara A, Makkar HPS, Becker K. 2009a. Emisi metana dan fermentasi rumen *In Vitro* ransum hay yang mengandung tannin murni pada konsentrasi rendah. *Media Peternakan*. 32(3): 185–195.
- Jayanegara A, Sofyan A, Makkar HPS, Becker K. 2009b. Kinetika produksi gas, pencernaan bahan organik, dan produksi gas metana *In Vitro* pada hay dan jerami disuplementasi hijauan mengandung tannin. *Media Peternakan*. 32(2): 120–129.
- Leng RA. 1991. Application of Biotechnology to Nutrition of Animal in Developing countries. *FAO Animal Production and Health Paper*.
- Ogimoto K, Imai S. 1987. *Atlas of rumen microbiology*. Tokyo (JP): Japan Scientific Societies Press.
- Theodorou MK, Brook AE. 1990. *Evaluation of a New Laboratory Procedure for Estimating the Fermentation Kinetic of Tropical Feeds*. Chatham (UK): Contractor Report (EMC X0162) for the Natural Resources Institute.
- Thorpe A. 2009. Enteric fermentation and ruminant eructation: the role of methane in the climate change debate. *Climate Change*. 93(3/4): 407–431. <http://doi.org/fckbws>
- Wina E, Muetzel S, Hoffman E, Makkar HPS, Becker K. 2005. Saponins containing methanol extract of *Sapindus rarak* affect microbial fermentation, microbial activity and microbial community structure *in vitro*. *Animal Feed Science and Technology*. 121(1–2): 159–174. <http://doi.org/bv7bjq>
- Yunilas. 2009. Bioteknologi Jerami Padi Melalui Fermentasi Sebagai Bahan Pakan Ternak Ruminansia. Medan. (ID): Universitas Sumatera Utara.